

201034018A

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス

総合研究事業

漢方処方製剤の安全性及び同等性の評価並びに

生薬の品質確保と国際調和に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

(H21-医薬-一般-004)

研究代表者 合田 幸広

平成23(2011)年3月

目 次

I . 総括研究報告書

漢方処方製剤の安全性及び同等性の評価並びに生薬の品質確保と国際調和に関する研究 合田 幸広	1
--	---

II . 分担研究報告書

1. 生薬及び漢方処方の安全性と有効性に関する研究

合田 幸広	
漢方処方の日本薬局方原案作成に関する研究 合田 幸広	15
防風通聖散製剤を用いた使用実態調査研究 合田 幸広・鄭 美和	19
定量 NMR (qNMR) による日本薬局方試薬の定量規格化の検討 合田 幸広・細江 潤子	33
葛根湯エキス製剤および湯剤の同等性に関する研究 鎌倉 浩之・堀井 周文	49

2. 漢方処方製剤の同等性の評価に関する研究および漢方処方の安全性と有効性に関する研究

袴塚 高志	
一般用漢方製剤承認基準の改正に関する研究 袴塚 高志	55
マクロファージにおけるサイトカイン発現に影響を及ぼす漢方処方に関する研究 袴塚 高志	87
エキス収量による漢方製剤の品質評価に関する研究 袴塚 高志	99

3. 生薬中の不純物に関する研究

鎌倉 浩之	
漢方エキス中の水銀、ヒ素、鉛及びカドミウムの実態調査 鎌倉 浩之	111

4. 生薬の薄層クロマトグラフィー情報の集積と公開に関する研究

木内 文之	
生薬の TLC 情報の集積と公開に関する研究 木内 文之	117

5. 生薬の品質確保と国際調和に関する研究

川原 信夫

第8回 Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal
Medicines (FHH) 国際会議に関する報告

川原 信夫127

III . 研究成果の刊行に関する一覧表159

漢方処方製剤の安全性及び同等性の評価並びに生薬の品質確保と国際調和に関する研究

研究代表者 合田幸広（国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長）

研究要旨 本研究は、一般用漢方処方製剤の安全性・有効性の評価方法、医療用漢方処方製剤に関する後発品の承認に関する問題、漢方処方原料である生薬の品質確保と標準化の問題等、漢方処方や生薬について、どのように安全性や有効性を担保し、品質をどのように保証するかという行政上の諸問題に直接対応するための研究である。また、Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines (FHH)に直接関与することで、生薬に関する国際調和にも貢献することを目的としている。このような目的の下、本年度は以下のような、一般用漢方処方製剤の安全性と有用性に関する研究、医療用漢方処方の同等性に関する研究、漢方処方の安全性・有効性に関する研究、生薬の品質確保に関する研究、生薬の TLC 情報の集積と公開に関する研究、生薬の国際調和に関する研究を行った。

一般用漢方処方製剤の安全性と有用性に関する研究では、近年一般用漢方処方製剤として売り上げが伸びている処方に防風通聖散を対象とし、平成 22 年度は実行委員会の下、4 社の市販製品を使用して AUR を実施し、関東地区、関西地区を合わせて 35 名の調査責任薬剤師と契約を締結、199 例のエントリーが得られ、うち 188 例について有効な回収が確認された。また、医師の受診が必要な有害事象等、重大なトラブルは生じなかった。

医療用漢方処方の同等性に関する研究では、同等性品質評価指標のひとつとしてエキス収量を想定し、局方収載処方を中心として、国内主要生薬・漢方メーカー 5 社の生薬を用い、昨年度に引き続き 6 処方及びそれらを構成する生薬の凍結乾燥エキスを調製し、そのエキス収量（収率）を測定した。その結果、生薬及び処方のエキス収率の会社間のバラツキは、概して小さく、さらに、漢方処方エキス収量の実測値は、個々の構成生薬のエキス収量から予測される理論値と良い一致を示した。この事実は、エキス収量が明確な生薬を構成原料とする限り、得られる漢方処方エキスのエキス収量は予測可能であることを意味し、エキス収量（収率）が、局方における新たな品質評価指標として、また、医療用漢方製剤後発品の同等性評価の指標として適用できる可能性が示された。さらに、エキス製剤および湯剤の同等性に関する研究では、漢方処方製剤として、葛根湯を選択しその指標成分であるエフェドリン（E）及びプソイドエフェドリン（PE）の血中濃度推移を検討し、製剤と湯剤の同等性について検討を行った。その結果、E 及び PE について、血漿中濃度、Cmax 及び AUC について製剤間で有意な差は認められなかった。

漢方処方の安全性、有効性に関する研究では、本年度は、まず平成 22 年 4 月 1 日、厚生労

働省医薬食品局審査管理課長通知として「一般用漢方製剤承認基準の改正について」(薬食審査発第 0401 第 2 号) (以下、「改正新基準」) が発出されたことに対応し、新基準を解説する「追補版 改訂一般用漢方処方の手引き」の出版準備を行った。さらに、マクロファージ系サイトカイン発現に影響を与える漢方処方についてスクリーニングを行った結果、炎症性サイトカインである Interleukin-6 の発現を抑制する処方として、乙字湯、小承気湯、大黄甘草湯等の大黄配合処方を見出した。

生薬の品質確保に関する研究では、日本薬局方に収載された漢方エキスのうち、小青竜湯、加味逍遙散、八味地黄丸、葛根湯及び黄連解毒湯を対象にヒ素、カドミウム、水銀及び鉛の実態調査を行った。その結果、試験を行った 5 処方 64 検体については、香港基準値と比較した場合、小青竜湯 1 検体においてカドミウム値が 0.52 ppm と 0.3 ppm を越えた以外は、いずれも基準値を下回ることが判明した。また qNMR に関し、日本薬局方において生薬等の成分含量測定用に用いられる試薬 2 種を用いバリデーション実験を実施した結果、有効数字 2 桁程度の精度を持つ値付けが、現実的に可能であることが示された。

また、生薬の TLC 情報の集積と公開に関する研究では、昨年に引き続き 31 品目につき生薬の TLC 確認試験についてデータ収集を行い、何らかの問題点が明らかになった 9 品目(ウコン、カシュウ、サンショウ、ベラドンナコン、マシニン、ヤクモソウ、リョウキョウ、ロートコン及び昨年度検討したマクリ)について、試験法の改正案を作成し、日本薬局方原案審議委員会生薬等 (B) 委員会に提案した。

生薬の国際調和に関する研究では、香港で開催された第 8 回 FHH Standing Committee 会議並びに第 4 回 FHH International Symposium に参加するとともに、Sub-Committee I の活動として、従来と比較表に英文説明を入れた改定版を作成し、ネット上 <http://www.nihs.go.jp/dpp/FHH/FHH.htm> で公開した。

研究分担者

木内文之 慶應義塾大学薬学部教授
川原信夫 (独)医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター・センター長
袴塚高志 国立医薬品食品衛生研究所生薬部室長
鎌倉浩之 国立医薬品食品衛生研究所生薬部主任研究官

研究目的

本研究は、一般用漢方製剤の安全性・有効性の評価、医療用漢方製剤に関する同等性に関す

る問題、漢方製剤原料である生薬の品質確保と標準化の問題等、漢方製剤や生薬について、どのように安全性や有効性を担保し、どのように品質を保証するかという行政上の諸問題に対応するための研究である。また、Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines (FHH) に直接関与し、生薬に関する国際調和にも貢献する。

研究代表者らは、これまで一般用漢方製剤の AUR による有用性評価を提唱し、すでに市販 3 製剤につき同法が有用性評価法として十分に

利用可能であることを示している。本研究では、さらに安全性確保の視点も加え、昨今、急激に販売量が増えた製剤を対象とし AUR を実施する。また、漢方処方に対し、腸管上皮細胞のトランスポーターや腸内細菌相に対する影響を指標にして安全性・有効性を検討した例はない。また、従前の研究で、局方収載 8 処方について広く原料生薬を入手、生薬を個々に抽出した場合と処方として抽出した場合で、抽出総エキス量はほとんど変わらないことを明らかにし、生薬の同等性評価上、抽出エキス量で代表される一次代謝物量が重要であることを示している。本研究では、対象処方を拡大するとともに、主要な二次代謝成分を対象として同等性確認のため血清中に指標成分が検出可能であるかどうか検討する。また、日本流通生薬の不純物に関する広範囲な実態調査は、研究代表者のグループのみで行われており、本研究では、諸外国等の情報を参考にしながら引き続き、不純物含量の原因等について検討を行うものである。さらに、生薬や漢方製剤の品質確保と標準化を目的とし、生薬の基原、確認試験、定量法等について検討を行う。また、TLC 情報の集積と公開に関する研究では、局方収載等を念頭に収集された生薬市場品の多様性とマーカー化合物の関係を視覚情報として公開する目的で行う。また、FHH の活動を支援することで、日本の漢方製剤・生薬に関する情報を世界に発信する。

以上、本研究は、重層的な視野で漢方製剤や生薬を、医薬品として国内外で今後どのような形で流通させ、国民の保健衛生の向上に役立たせるか検討するための必要資料を提供するものである。

B.研究方法

B-1 一般用漢方処方製剤の安全性と有用性に関する研究

昨年度は、「一般用漢方処方のパイロット使用実態調査研究 AUR (Actual Use Research)」で確立された手法を参考に、調査計画書、調査説明・同意書、エントリー確認票、調査記録票、調査協力者日誌、調査協力者記録票、勧誘のためのポスターの準備を行った。本年度は、これらを用い、5月～12月の期間で東京地区、大阪地区で同時に調査を行った。漢方処方を通常取り扱っている薬局と契約を結び、調査実施薬局と定めた。調査実施薬局において、実際に調査に携わる薬剤師、すなわち調査薬剤師が、購入目的で来店した消費者に対して『一般用漢方処方防風通聖散の使用実態調査参加についての説明書および同意書』を用いて本調査研究に関する説明を行い、同意が得られた消費者を調査協力者とした。調査使用薬は市販の4社4製品を使用した。調査実施薬局1店舗につき1製品のみを調査使用薬として扱った。調査使用薬を通常の販売形態にて販売をした上で、従来と同様にアンケート方式にて調査を実施した。調査終了後、調査記録票および調査協力者日誌は事務局まで返送された。

B-2 医療用漢方処方の同等性に関する研究

エキス収量による漢方製剤の品質評価に関する研究では、生薬を煎じる際には、ウチダ和漢薬製のらくらく煎を用い、煎出液の遠心分離は KUBOTA 高速冷却遠心機 6500 で行った。煎出液の凍結乾燥は FREEZE DRYER FDU-830 (東京理化器械) を用いて行った。

また、葛根湯エキス製剤および湯剤の同等性に関する研究では、被験者総数は6とし、無作為に2グループとした。これらについて、葛根湯の湯剤及びエキス製剤のクロスオーバー試

験を行った。すなわち、各グループに葛根湯の湯剤またはエキス製剤を投与後、2週間おいて湯剤を投与したグループはエキス製剤を、エキス製剤のグループは湯剤をそれぞれ投与した。いずれの場合においても投与後、経時的に採血を行い、それを分析に供した。分析対象としては、葛根湯構成生薬の一であるマオウの指標成分のエフェドリン (E) 及びプソイドエフェドリン (PE) を選択した。血漿中の両化合物の分析には、装置として、GCMS-QP2010 ガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC-MS; 島津製作所製) を用い、SIM 法により分析を行った。

また、エキス製剤および湯剤の同等性に関する研究では、分析装置に GCMS-QP2010 ガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC-MS; 島津製作所製) を用い、EI 検出 SIM 法によりエフェドリン (E) 及びプソイドエフェドリン (PE) について、 m/z 254 をモニターするとともに、内部標準として使用した E-d3 及び PE-d3 について m/z 257 を観測した。

B-3 漢方処方 of 安全性、有効性に関する研究

「追補版 改訂一般用漢方処方の手引き」作成に際して、新基準の書面に反映された部分の改訂に加え、以下の点を検討した。原点・出典の整備、処方解説及び参考文献情報における記載整備 (漢字使用及び仮名遣い及び、漢字の用事の統一)、基本処方と類方の関係、各処方の分類番号、書体等。

マウスマクロファージ様細胞 RAW264.7 (ATCC: TIB-71) は、大日本住友製薬より購入した。RAW264.7 細胞の継代培養は、DMEM 培地で、 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 、暗黒下に行った。培地中のサイトカイン量は、Meso Scale Discovery 社の 96-Well Mouse Cytokine Assays Tissue Culture Kit に従って測定した。

スクリーニング対象処方は、「新一般用漢方処方の手引き案 (改訂版)」に記載された 298 処方の中から、効能・効果として下部消化管への作用が謳われている処方を中心にして選択した。また、本年度は、サイトカインとして炎症性サイトカインである IL-6 を選択した。

B-4 生薬の品質確保に関する研究

漢方エキス中の水銀、ヒ素、鉛及びカドミウムの実態調査では、日本漢方生薬製剤協会技術委員会不純物試験法部会の協力のもと、小青竜湯、加味逍遙散及び八味地黄丸は、8 社全てのエキスを、葛根湯及び黄連解毒湯は、それぞれ 4 社のエキスを分析対象とし、各エキスにつき ICP-MS を使用し 2 ロットの分析を行った。定量 NMR (qNMR) のバリデーション実験は、平成 22 年 10 月下旬より 11 月下旬までの期間で行った。測定は、機器間誤差を確認するため同一参加者による同一機器による測定実験を除き、バリデーション実験の参加者 5 名が、全ての操作について独立して行った。機器は、日本電子製 ECA800, ECA600, ECA500, ECS400 (2 台) を使用した。観測核 ^1H 、測定周波数は機器に対応して $400\text{-}800\text{MHz}$ 、観測スペクトル幅は 20ppm 、デジタルフィルタを使用し、スペクトル中心は 5ppm の位置に設定、パルス幅 90° 、取り込み時間 4 秒、取り込み点数 (Resolution) 0.25Hz 、遅延時間 60 秒、オート FG シムによるシム調整、測定温度は室温とし、MPF8 による ^{13}C デカップル実施、積算回数 8 回、ダミーキャン 2 回とし、各試料について、非連続に 3 回測定を行った。NMR データの処理には、日本電子製 Alice 2 for qNMR を使用、内部標準物質ピーク (BTMSB- d_4) のトリメチルシリルピークを 0ppm とし、マニュアル法で位相補正、オートベースライン補正を

行い、測定者の判断に基づき、マニュアル法で各ピークの積分範囲を決定した。市販試薬の値付けは、オートサンプラ付き ECA600 を使用し、その他は、バリデーション実験と同様に行った。B-5 生薬の TLC 情報の集積と公開に関する研究

生薬の確認試験を日常的に行っている生薬関連会社の担当者を中心とする研究班を組織し、日本薬局方の生薬各条に規定された TLC による確認試験を実施して、その問題点等を検討した。薄層板としては、前年度に引き続き、メルク社製並びに和光純薬工業社製の市販プレートを用い、10 cm と 7 cm の展開結果を比較した。今年度検討した生薬は、インチンコウ、インヨウカク、ウコン、ウヤク、ウワウルシ、カシュウ、キササゲ、キョウカツ、キョウニン、ケイヒ、ゴボウシ、サンショウ、サンソウニン、シコン、シツリシ、ジャショウシ、ショウキョウ、シンイ、ダイオウ、トウニン、ドクカツ、テンマ、バイモ、ビャクゴウ、ビンロウジ、ベラドンナコン、ヘンズ、マシニン、ヤクモソウ、リョウキョウ、ロートコンの 31 品目である。

B-6 生薬の国際調和に関する研究

第 8 回 FHH Standing Committee (香港, 10 月 28-29 日), に参加し活動報告を行った。また、日本が主催する Nomenclature and Standardization の Sub-Committee I の活動を行った。また、Standing Committee に引き続いて開催された、第 4 回 FHH 国際シンポジウムに参加した。

<倫理面への配慮>

漢方処方の使用実態調査研究 (AUR) では、研究対象者の不利益・危険性などを排除するため、インフォームド・コンセントや緊急時の対応等について十分に討議を行い、国立医薬品食品

衛生研究所の研究倫理審査委員会の許諾を得て実施した。また、ヒト試料を用いる研究では、「ヒトゲノム・遺伝所解析研究に関する倫理指針」等、遵守すべき規準に従い、国立医薬品食品衛生研究所の研究倫理審査委員会での審査を受けて実施した。また、現段階で動物実験を行う予定はないが、もし使用する必要が生じた場合には、各所属機関の動物実験倫理委員会の定める規定に則り、動物愛護上の配慮を行う。また、他の研究においても、倫理面の配慮が必要な場合には、同様に十分に討議し、遵守すべき規準に従う。

C. 結果・考察

C-1 一般用漢方処方製剤の安全性と有用性に関する研究

調査を行った結果、総エントリー数は 199 例となり、うち回収数 (有効エントリー数) は 188 例 (94.5%)、脱落数 (非有効エントリー数) は 11 例 (5.5%) となった。有効エントリー 188 例について解析を行った。有効エントリーは、①終了、②副作用による中断、③治癒による中断・その他、の 3 パターンに分類された。研究協力者は女性が 61%、男性が 39% となり、調査開始から 1 か月の間にスタートした人が 55 例と、一番多いことが分かった。この結果は、過去に実施したパイロット調査と同様であった。

同意取得に要した時間は、5~10 分が 54% と半数以上を占め、5 分以内を含めると 95% となった。調査協力者の年齢は、20 歳から最高 85 歳の女性まで幅広い協力が得られた。平均年齢は男女ともに 40 代だったが、50 代の協力者が多いことが分かった。防風通聖散の服用経験は、「なし」が 64% を占めていた

防風通聖散服用後の体調変化について、調査薬剤師が調査協力者にアンケートを取ったところ、「なし」と回答した人が88%であった。他方、「あり」と回答した人が19例あり、“明らかな症状があり日常生活に支障がある”症状として、下痢、腹痛を回答した例が確認された。体調変化についての質問は、副作用を意識した質問であったが、体調が良くなったととらえた回答が1例認められた。

調査薬剤師による有用性評価を解析した結果、「きわめて有用」+「有用」が22%となった。これは過去に実施したパイロット調査（猪苓湯、葛根湯、加味逍遙散）を合わせた中で一番低い数字となった。これは部会でなされた論点の一つである、防風通聖散の効能・効果として挙げられる「肥満症」について、調査薬剤師、調査協力者共に肥満症に対して効果が薄いとの認識を反映したものである。任意で得られた服用前後の体重・腹囲の測定結果の統計を解析し、認識をより具体化する必要がある。

188例の回収数（有効エントリー）のうち、服用中断が10例報告されたが、調査期間中に医師の受診が必要な有害事象等、重大なトラブルは生じなかった。このうち副作用による中断と判断されたものは5例であり、そのうち3例は、本調査薬剤による因果関係がある副作用と考えられ、残り1例は因果関係がないと薬剤師が判断、もう一例も、より便秘になったということで、因果関係がないものと判断された。因果関係があるものと判断されたもののうち1例は、52才の女性で、服用日、夜に尿の色がレモン色に変化、使用を中止しても、2日目に腹痛、下痢、嘔吐、脂汗も出るほどの腹痛と下痢があり、かなり激しい症状であったが、その後、落ち着いたということで医者を受診までには至らな

かった。

C-2 医療用漢方処方同等性に関する研究

エキス収量による漢方製剤の品質評価に関する研究では、新しい日本薬局方（第16改正）に記載されている処方を中心として、国内主要生薬・漢方メーカー5社の生薬を用い、柴朴湯、十全大補湯、釣藤散、当帰芍薬散、麦門冬湯及び無コウイ大建中湯の6処方及びそれらを構成する生薬の凍結乾燥エキスを調製し、そのエキス収量（収率）を測定した。その結果、生薬及び処方のエキス収率の会社間のバラツキは、概して小さく、さらに、漢方処方エキス収量の実測値は、個々の構成生薬のエキス収量から予測される理論値と良い一致を示した。この事実は、構成原料である生薬のエキス収量が明らかであれば、それらから調製される漢方処方エキスのエキス収量は予測可能であることを意味し、エキス収量（収率）を局方における新たな品質評価指標として利用できる可能性が示された。

エキス製剤および湯剤の同等性に関する研究では、E及びPEについて、血漿中濃度、Cmax及びAUCについて製剤間で有意な差は認められないことが判明した。次いで、エキス製剤と湯剤の間でのE及びPEのCmax及びAUCの差は、平均値の差の90%信頼区間内に収まっていたことから、検出力(1-β)についての検討を行うこととした。その結果、Eは検出力が十分ではなく、AUC及びCmaxについて差が無いことの保証は無いことが判明した。一方、PEについては、AUC及びCmaxについては差が無いと判断し得ることが判明した。E及びPEの検出力に違いが認められたが、これはEの測定値のばらつきに由来しており、試験例数等を含めた実験計画の最適化が必要と考えられた。

C-3 漢方処方安全性、有効性に関する研究

新規追加 23 処方とそれに関連する処方は、一つの基本処方に複数の類方に関連付けられることもあり、「追補版 改訂一般用漢方処方の手引き」では、基本処方 16 処方とその類方 40 処方の合計 56 処方を表として記載した。さらに、これらの処方の関連性を「改正新基準追加 23 処方における基本処方及び類方の関係と体力分類に対する適応度」として表示した。本表では、各処方の「分類番号」は、「新手引き案（改訂版）」における処方番号の振り方に倣い、基本処方 16 処方を五十音順に並べて便宜的に基本処方 1～16 と番号を振り、また、それぞれの類方には、その基本処方の番号にアルファベットを付して、例えば類方 1A、類方 1B 等と番号を振った。「処方番号」欄には改正新基準における「新処方番号」を記載し、改正新基準と対照できるようにした。「処方名」では、新規追加 23 処方を斜字体で記載することにより強調した。処方の並び順としては、基本処方－類方の関係が一目で分かるように、まず基本処方を置き、類方はその下段に隣接して配置した。さらに、「成分・分量」、「効能・効果」及び「体力分類（体力のしぼり）に対する適応度のデジタル表示」を付すことにより、関連処方同士の比較や使い分けのヒントが得られるように配慮した。一方、改正新基準記載 236 処方の中には、上記 56 処方の他に、新基準 213 処方同士でも基本処方－類方の関係にある処方が多く存在する。その数は、基本処方 23 処方及びその類方 37 処方の合計 60 処方であり、これらの関連性をさらに別表として示した。なお、改正新基準は、Windows Vista が対応する JIS X 0213:2004 規格の書体によって記載されているが、JIS X 0213 は多くの旧字体に対応して

いるため、改訂 210 処方において当て字・略字を使用せざるを得なかった文字のうちいくつか（倦、屑、愈、榔、樽、溢、灼、煉、煎、蝕、飴）は、本追補版において正字（旧字体）で表現できるようになった。また、正字（旧字体）を作字して用いていた「葛」も、標準で正字（旧字体）を記載できるようになっている。

マクロファージ系サイトカインに影響を与える漢方処方に関するスクリーニングでは、マクロファージ様細胞に LPS 処理を行い、IL-6 を培地投与の対照区と比較して数千倍に増強した。この LPS 処理による IL-6 発現誘導を強く阻害した漢方処方（漢方処方を投与しない場合を 1 とした相対発現量）は、乙字湯 (0.50)、三黄瀉心湯 (0.44)、柴苓湯 (0.37)、小承気湯 (0.32)、真武湯 (0.47)、大黄甘草湯 (0.27)、大柴胡湯 (0.47) 及び桃核承気湯 (0.48) であった。一方、LPS 処理による IL-6 発現誘導をさらに増強させる処方は、単発のケース（胃風湯、胃苓湯、温清飲の 1 回目）以外は見出されなかった。これら 8 処方のうち、最終濃度 50 µg/ml において強い毒性を示したものは存在せず、この IL-6 発現抑制活性が細胞の生育阻害に由来するものではないことが判明した。また、これらの処方のうち乙字湯、三黄瀉心湯、小承気湯、大黄甘草湯、大柴胡湯及び桃核承気湯の 6 処方にはいずれも大黄が配合されており、大黄配合処方として見直すと、桂枝加芍薬大黄湯、滋血潤腸湯、紫根牡蛎湯、大黄牡丹皮湯も対照区細胞と比較して 1/2 には達しないものの、一定の抑制活性を示していることが観察された。今後、大黄単独での抑制活性を検討する必要がある物と考えられる。また、前述の 8 処方のうち大黄を含有しない処方は、柴苓湯及び真武湯であるが、これらの活性本体についても、生薬のレ

ベル、あるいは化学成分のレベルでさらに検討を進める予定である。

C-4 生薬の品質確保に関する研究

漢方エキス中の水銀、ヒ素、鉛及びカドミウムの実態調査では、試験を行った5処方64検体において、香港基準値と比較した場合、小青竜湯1検体においてカドミウム値が0.52 ppmと0.3 ppmを越えた以外は、いずれも基準値を下回っていた。しかしながら、小青竜湯においては、検体全てで比較的高値でカドミウムが検出された。一方、ヒ素や鉛は、同一処方内でもメーカーやロットによって値に幅があるなどの結果であったことから、原料生薬のヒ素及び重金属量を調査を行うなど、今回得られた結果の原因説明が必要と考えられた。

qNMRによる日本薬局方試薬の定量規格化の検討では、本年度は、日本薬局方において生薬等の成分含量測定用に用いられる化合物（マグノロール、ゲニポシド）を用い、これまでに確立したqNMR法を用いて、同一の試料を使用し、5機関の測定者間で独立に定量実験を行い、同法についてバリデーションを行った。その結果、分子量300で10mg程度の定量試料を調製すれば、機器間誤差を含めても得られた定量値のばらつきが0.2程度、さらに、機器間誤差を無視できる場合には、機器内の測定ばらつき0.08、調液によるばらつき0.07程度となり、有効数字2桁を保証しながら十分に値付けが可能となることが明らかになった。さらに、市販されている試薬について、順次qNMRを測定し、SIトレーサブルな値付けを実施した。その結果、多くの試薬では純度は96%以上を示したが、Saikosaponin a及びSaikosaponin b₂、それぞれ90.1%、86.5%の含量を、Barbaloin(2ロット測定)で、90.0%、92.3%の

値を示した。

C-5 生薬のTLC情報の集積と公開に関する研究

まず、指標成分のRf値並びにTLCプレートがRf値に与える影響について検討した。標品を同時に展開しない確認試験では、指標成分のRf値が日局に記載されているが、今回検討した品目の中では、ドクカツの指標成分のRf値が日局記載の値と0.1程度異なっており、日局の規定を変更する必要があるものと思われた。さらに、メルク社製のプレートと和光純薬社製プレートを比較すると、和光純薬社製のプレートでRf値が大きくなる傾向にあり、特に酸性基を持つセンノシドを検出するダイオウの確認試験で、指標成分のRf値に大きな差が見られた。次いで、展開距離とRf値の再現性に関する検討を行った。同一機関で行った展開距離7cmと10cmのTLCのクロマトグラムを比較した結果、両者の間にはほとんどパターン之差がなく、スポットの確認には全く支障がないことが明らかとなった。また、指標成分スポットのRf値を比較しても、展開距離の差によるRf値の変化はほとんど見られなかった。さらに、スポットの濃度の変更や、検出方法の変更を考慮すべき等、今回明らかとなった結果に基づき、何らかの変更が必要と考えられた品目（ウコン、カシュウ、サンショウ、マクリ、マシニン、ヤクモソウ、リョウキョウ、ベラドンナコン、ロートコン、ジャショウシ）については改善策を検討し、変更案を作成して日本薬局方原案審議委員会生薬等(B)委員会に提案した。なお、データの公開については、これまでの検討結果にも続き、今後、医薬基盤研究所において、別の研究費で対応することとなった。

C-6 生薬の国際調和に関する研究

会議では、Sub-Committee Iの活動の成果として、各国におけるクリーンアナリシスの現状報告が相次いだ。比較表に関して近日中にVP4の英語版が刊行され、またCP 2010の英語版も順次刊行される予定であるので、入手次第更新を行うことになっているが、いまだCP2010英語版はいまだ未刊行であるのでペンディング状態である。他方、Sub-Committee Iの活動として従来の比較表については、英文解説をいれた改訂版を作成し、再版として印刷するとともに、国立衛研のネット上で公開<http://www.nihs.go.jp/dpp/FHH/FHH.htm>することになった。また、会議に引き続き10月30日、香港、ハーバードランドホテルで、Regulation and Research of Herbs and Herbal Productsのテーマで第4回FHH国際シンポジウムが開催され、12人の演者による講演があり、日本からは、川原分担研究者がNew Technology for Research and Quality Controlにおいて、Evaluation of Taste of Kampo Formulae and Crude Drugs by a Taste-Sensing Systemのタイトルで講演を行った。また、来年度、再来年度のCoordinating Member Partyについてベトナムが推薦された。

D.結論

D-1 一般用漢方処方製剤の安全性と有用性に関する研究

調査薬剤師による有用性評価を解析した結果、「きわめて有用」+「有用」が22%となった。これは過去に実施したパイロット調査（猪苓湯、葛根湯、加味逍遙散）を合わせた中で一番低い数字であった。また、本調査を行うことで、詳細かつ有用な副作用情報を得ることができた。188例中、本薬剤と因果関係があると考えられ

る副作用による服用中断は3例であった。今後、有効性、安全性の両面からより詳細な解析を行う予定である。

D-2 医療用漢方処方の同等性に関する研究

医療用漢方処方の同等性に関する研究では、エキス収量（収率）が、局方における新たな品質評価指標として、また、医療用漢方製剤後発品の同等性評価の指標として適用できる可能性が示された。エキス製剤および湯剤の同等性に関する研究では、E及びPEについて、血漿中濃度、Cmax及びAUCについて製剤間で有意な差は認められないことが判明した。次いで、検出力についての検討を行ったところ、今回得られた結果ではEでは、測定値がばらつき、検出力が十分ではないことが明らかとなり、今後、さらに指標成分の検討を行い、知見を集積していく必要があると考えられた。

D-3 漢方処方の安全性、有効性に関する研究

平成22年4月に発出された改正新基準は、旧基準210処方が見直された新基準に対して、「新引き案（改訂版）」に提案された23新規処方が追加収載されたものである。本通知は従来処方の類方の追加であったが、平成23年4月には、さらに全く新規の処方27処方についても追加収載が通知される。今後、これら新規処方を含む漢方処方製剤が市場に新たに流通することにより、一般用漢方処方を用いたセルフメディケーションが実施され、これら新規漢方処方製剤が国民の健康の増進及び維持に貢献することを期待する。

また、漢方処方の有効性及び安全性に関する研究の一環として、マウスマクロファージ様細胞のモデル系を用い、下部消化管への作用が想定される処方について、炎症性サイトカインIL-6の発現に与える影響を検討した。その結果、主

に大黃配合処方から成る、乙字湯、三黃瀉心湯、柴苓湯、小承氣湯、真武湯、大黃甘草湯、大柴胡湯及び桃核承氣湯の 8 処方が IL-6 の発現を抑制する処方として見出された。

D-4 生薬の品質確保に関する研究

今回、比較的高い重金属含量を示した処方エキスについては、その原因生薬を解明する必要があると考えられた。(本件は、審査管理課と相談ののち、別予算で原材料の生薬について外注にて分析を行った。その結果、八味地黄丸では、ヒ素でサンヤク、ジオウ、鉛でケイヒが、小青竜湯では、ヒ素でサイシン、カドミウムでハンゲ、サイシン、鉛でケイヒ、サイシン、ゴミシ、水銀でゴミシ、加味逍遙散では、カドミウムでビャクジュツ、鉛でサイコ、ハッカ、トウキ、ビャクジュツ、黄連解毒湯では、鉛でオウバクが、ヒ素 1.0ppm、カドミウム 1.0ppm、鉛 2.0ppm、水銀 0.2ppm の値を超える含量を持つ原料生薬を使用している場合があることが判明した。なお、カドミウムを除き、香港生薬標準の規制値を超えた生薬は、ヒ素：サンヤク、ジオウ、鉛：ケイヒ、サイシン、ハッカ、オウバク、水銀：ゴミシである)。

qNMR による日本薬局方試薬の定量規格化の検討では、qNMR により、日本薬局方で使用する試薬の SI トレーサブルな定量値付けが現実的に可能であるかどうか検討するため、実際に使用される可能性の高い化合物を利用して、5 機関によるバリデーション実験を行った。その結果、有効数字 2 桁程度の精度を持つ値付けが、現実的に可能であることが示された。

D-5 生薬の TLC 情報の集積と公開に関する研究

今年度検討した 31 品目の生薬の TLC による確認試験のうち、何らかの問題点が明らかにな

ったウコン、カシュウ、サンショウ、ペラドンナコン、マシニン、ヤクモソウ、リョウキョウ、ロートコン並びに昨年度検討したマクリについては、問題点を解決するための試験条件の変更を検討して試験法の改正案を作成し、日本薬局方原案審議委員会生薬等 (B) 委員会に提案した。これらの改正案は、日本薬局方の信頼性の向上と日本で用いられる生薬の品質の確保に貢献することが期待される。

D-6 生薬の国際調和に関する研究

第 8 回 FHH Standing Committee 会議並びに第 4 回 FHH International Symposium に参加するとともに、Sub-Committee I の活動として、従来の比較表に英文説明を入れた改定版を作成し、ネット上 <http://www.nihs.go.jp/dpp/FHH/FHH.htm> で公開した。

E.健康危機情報

特になし。

F.研究発表

1. 論文発表等

- 1) Sato, M., Anetai, M., Kamakura, H., Goda, Y., "Migration of organophosphorus pesticides to decoctions of Kampo formula from crude drugs." *Pharmaceutical and Medical Device Regulatory Science* 41, 458-468 (2010).
- 2) 合田幸広, 食品・天然物の新しい分析・鑑定技術, *FFIジャーナル* 215(2), 127-128 (2010).

- 3) Sato, M., Hakamatsuka, T., Anetai, M., Kamakura, H., Goda, Y., "Fate of residual organophosphorus pesticides in decoctions based on Kampo formula during drying process." *Pharmaceutical and Medical Device Regulatory Science* 41, 816-822 (2010).
- 4) Hosoe, J., Sugimoto, N., Goda, Y., "Trial study to determine absolute purities of chemical reagents used as reference standards in Japanese Pharmacopoeia by using quantitative NMR (qNMR)" *Pharmaceutical and Medical Device Regulatory Science* 41, 960-970 (2010).
- 5) Amakura, Y., Yoshimura, M., Kawahara, N., Goda, Y., Yoshida, T., "TLC-based identification test for the crude drug "Salviae miltiorrhizae Radix" and "Codonopsis Radix"." *Jpn. J. Pharmacog.* 65, 18-24 (2011).
- 6) Kiuchi, F., Goda, Y., Isizaki, M., Ito, H., Kawasaki, T., Kawahara, N., Kanmoto, T., Kikuchi, Y., Kondo, S., Sugimoto, C., Narukawa, Y., Higano, T., Yamamoto, Y., "Crude drug identification tests with TLC in the Japanese Pharmacopoeia (1), On the TLC tests with 1-butanol/water/acetic acid solvent system." *Jpn. J. Pharmacog.* 65, 25-32 (2011).
- 7) Anjiki, N., Hosoe, J., Fuchino, H., Kiuchi, F., Sekita, S., Ikezaki, H., Mikage, M., Kawahara, N., Goda, Y., "Evaluation of the taste of crude drug and Kampo formula by a taste-sensing system (4) : taste of Processed Aconite Root." *J. Nat. Med.* 65, 293-300 (2011).
- 8) Kawahara, N., "Recent Progress of International Harmonization of Crude Drugs and Medicinal Plants-Activity of FHH (The Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines)." *Yakugaku Zasshi.*, 131, 383-393 (2011).
- 9) 袴塚高志, "漢方処方エキスの局方収載と一般用漢方処方承認基準の見直し". *ファルマシア*, 48(5), 413-418 (2011).
- 10) Doui, M., Anjiki, N., Ina, S., Yoshimitsu, M., Kawahara, N., Goda, Y., Kakiuchi, N., Mikage, M., "Temporal change in quality of the Kampo decoction packed by the decocting machine (1) — on Daiokanzoto — ." *Jpn. J. Pharmacog.* 55(2), in press (2011).
2. 学会発表等
- 1) 合田幸広, 生薬及び漢方製剤の品質確保, 保健医療科学院薬事衛生管理研修, 和光 (2009.6).
- 2) 袴塚高志, 漢方製剤の品質確保と標準化〜安心できる医療と質の高い基礎研究のために〜, 第13回天然薬物研究方法論アカデ

- ミー 覚王山シンポジウム, 名古屋 (2010.8) .
- 3) 堀井周文, 小此木明, 大窪敏樹, 鎌倉浩之, 合田幸広, 桂枝茯苓丸エキス製剤中の Paeonol の血中濃度測定法に関する研究, 第27回和漢医薬学会大会, 京都 (2010.8) .
- 4) 合田幸広, 生薬・漢方分野における日本薬局方の改正について, 日本漢方生薬製剤協会行政・学術講演会, 東京 (2010.9) .
- 5) 木内文之, 成川佑次, 合田幸広, 石崎昌洋, 糸博之, 川崎武志, 川原信夫, 神本敏弘, 菊地祐一, 近藤誠三, 杉本智潮, 日向野太郎, 山本豊, 日本薬局方収載のTLCによる生薬の確認試験(1) 1-ブタノール/水/酢酸(100)混液を展開溶媒とする確認試験について, 日本生薬学会第57回年会, 徳島 (2010.9) .
- 6) Goda, Y., Pharamacopoeial Topics in Japan from 2009 to 2010, The 8th Standing Committee Meeting of the Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines, 香港 (2010.10).
- 7) Fumiya, K., Re-investigation of crude drug identification test by TLC, The 8th Standing Committee Meeting of the Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines, 香港 (2010.10).
- 8) Kawahara, N., Evaluation of taste of Kampo formulae and crude drugs by a taste-sensing system, The 4th International Symposium of the Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines, 香港 (2010.10).
- 9) Goda, Y., Standardization for Traditional Medicines in Japan, International Symposium on Standardization of Traditional Medicines, Toyama (2010. 11).
- 10) Goda, Y., Quality, safety, efficacy of herbal medicines in Japan and our related studies, 国際厚生事業団GMP講習会, 東京 (2010.11) .
- 11) 合田幸広, 生薬に関する最近の話題, 日本生薬学会関西支部講演会, 大阪 (2010.11).
- 12) Goda, Y., Pharmacopoeia in east Asian countries, Tokyo Forum on International Standardization of Natural Medicines, 東京 (2011.1) .
- 13) 合田幸広, 一般用医薬品承認審査合理化等検討会(中間報告)への対応研究, 大阪家庭薬協会講演会, 大阪 (2011.1) .
- 14) 若菜大悟, 丸山卓郎, 神谷 洋, 川崎武士, 山本 豊, 林 茂樹, 柴田敏郎, 合田幸広, メタボローム解析によるシャクヤクの品

質評価，第131回日本薬学会，静岡
(2011.3)。

*Artemisia argyi*含有成分の構造検討と合成，第131回日本薬学会，静岡(2011.3)。

15) 安食菜穂子，細江潤子，伏見裕利，小松かつ子，蔡少青，池崎秀和，御影雅幸，川原信夫，合田幸広，味認識用脂質膜センサーによる生薬「カッセキ」の日本及び中国市場品の識別に関する検討，第131回日本薬学会，静岡(2011.3)。

16) 青木勝之，余村かおり，平倉一弘，菊地祐一，西村浩昭，丸本正彦，司馬真央，近藤健児，川原信夫，木内文之，合田幸広，局方ガイヨウの品質規格策定のための

3. その他，単行本等

1) 日本薬局方フォーラム19(4) pp461-466
に，当帰芍薬散エキス及び関連試薬の原案が提示された。

2) 合田幸広，袴塚高志，改訂 一般用漢方処方
の手引き 平成22年4月1日通知(加減方
追加) 対応追補版，監修日本公定書協会，
編集日本漢方生薬製材協会，じほう，東京
(2010)，pp. 1-71

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
分担研究報告書

分担研究課題

生薬及び漢方処方安全性と有効性に関する研究

研究分担者 合田幸広 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長

漢方処方の日本薬局方原案作成に関する研究

要旨 日本薬局方に漢方処方エキスを収載する目的で、漢方処方原案作成WG会議を平成22年度5回開催し、日本漢方生薬製剤協会、日本生薬連合、東京生薬協会、薬剤師会、日本試薬協会、生薬等委員会等からの参加者の意見を取りまとめて、随時日本薬局方原案審議委員会生薬等（A）委員会に漢方処方WGからの報告を行った。

研究協力者

川原信夫（医薬基盤研究所薬用植物資源研究センター）

木内文之（慶應義塾大学薬学部）

関田節子（徳島文理大学香川校）

袴塚高志（国立医薬品食品衛生研究所）

以上生薬等委員会。

中村高敏（医薬品医療機器総合機構）

三上政利（日本薬剤師会薬局製剤・漢方委員会）

小此木明，近藤誠三，高尾正樹，田村 真，川崎武志，玉木智生，石崎昌洋，山本藤輔，岩嶋浄，山田修嗣（以上，日本漢方生薬製剤協会）

有本恵子（日本生薬連合会）

菊地祐一，中村雄一，西村浩昭（以上，東京生薬協会）

糸 博之，岡 順子，八木 徹（以上，日本試薬協会）

楊 金緯（常磐植物科学）

方に漢方処方エキスを収載する目的で、事前にもどのような規格が可能か、実際に漢方処方製剤を販売している業界団体の関係者と日本薬局方生薬等委員会の委員、エキス製剤の原料を供給する生薬団体、分析試薬を準備する試薬業界団体の関係者及び日本薬剤師会の関係者が定期的に集まり意見交換を行う。また、漢方処方エキスの原料である一部の生薬の規格及び、漢方処方エキスの規格で使用する試薬・試液の規格についても意見交換を行う。

B. 研究方法

ほぼ2ヶ月に1回、国立医薬品食品衛生研究所内の会議室に研究協力者が集まり、日本漢方生薬製剤協会技術部会、東京生薬協会、日本試薬協会等が行った実験結果を元にして、お互いに忌憚ない意見を交換し、日本薬局方原案審議委員会生薬等（A）委員会に漢方処方WGからの報告書を提出する。

A. 研究目的

漢方処方製剤の品質確保を目指し、日本薬局

C. 研究結果・考察

本WG会議は、平成22年度、平成22年5月14日、同年7月6日、同年9月21日、同年11月26日、平成23年2月8日の5回開催された。WG会議では、特に16局以降に収載する漢方処方エキスの候補品目として、防己黄耆湯、麻黄湯、桃核承気湯、葛根湯加川芎辛夷、加味帰脾湯の5品目を先行して選定した。さらに、医療用漢方処方製剤の最近の生産動態を参考に、防風通聖散、五苓散、半夏瀉心湯、大柴胡湯、抑肝散及び乙字湯の6品目を優先収載候補品目候補として選定し、生薬等A委員会に報告した。

16局収載に間に合わなかった、当帰芍薬散エキス及び、同原案で使用する試薬等（定量用アトラクチロジン試液等）について、最終的な規格の検討を行い、結果をA委員会に報告した。次いで、前述した新規漢方処方11品目について、漢方処方エキスとして規格化していくための検討を開始した。

これらの処方エキスは、収載への技術的難易度を勘案して、難易度が低いものより、葛根湯加川芎辛夷、防己黄耆湯、麻黄湯（以上Aグループ）、乙字湯、大柴胡湯、半夏瀉心湯、抑肝散（以上Bグループ）、加味帰脾湯、五苓散、桃核承気湯、防風通聖散（以上Cグループ）の3グループに分類して、この順に規格を検討していくことになった。次いで、日漢協の下院各社に対して、これらの漢方処方エキスの規格に関しての開示要求を行った結果、ほとんどの会社より、データの開示を受けることが出来た。次いで、各漢方処方毎に、確認試験の指標成分、定量試験の対象成分等について議論が行われるとともに、実質的な検討が開始された。特に、防己黄耆湯エキスの定量分析の指標成分としては、オウギ成分の calycosin 7-O-glucoside が提案されており、本化合物の試薬としての販売方法も含めて検討が進んでいる。また、漢方

処方エキスの色、味、においについても、日漢協会会社より幅広く処方エキスの提供を受け、WG出席者全員による官能試験が順次実施され、個々の表現について議論が行われている。

D. 結論

第16改正日本薬局方第一追補では、本研究課題での報告を元にして、当帰芍薬散エキスおよび関連試薬について原案が完成し、収載予定となった。さらに、新規11漢方処方エキスの局方収載を目標として、技術的検討が開始された。

健康危険情報

本研究において健康に危険を及ぼすような情報はない。

E. 研究発表

- 1) 日本薬局方フォーラム 19(4) pp461-466 に、当帰芍薬散エキス及び関連試薬の原案が提示された。
- 2) 合田幸広、生薬・漢方分野における日本薬局方の改正について、日本漢方生薬製剤協会行政・学術講演会、東京（2010.9）
- 3) Goda, Y., Pharmacopoeial Topics in Japan from 2009 to 2010, The 8th Standing Committee Meeting of the Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines, 香港（2010.10）.
- 4) Goda, Y., Standardization for Traditional Medicines in Japan, International Symposium on Standardization of Traditional Medicines, Toyama（2010.11）
- 5) Goda, Y., Pharmacopoeia in east Asian countries, Tokyo Forum on International Standardization of Natural Medicines, 東京（2011.1）
- 6) 合田幸広、生薬に関する最近の話題、日本生

薬学会関西支部講演会，大阪（2010.11）。

分担研究課題

生薬及び漢方処方安全性と有効性に関する研究

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所 生薬部長 合田 幸広

研究協力者 国立医薬品食品衛生研究所 研究員 鄭 美和

防風通聖散製剤を用いた使用実態調査研究

平成 15 年度より一般用漢方製剤の有用性評価法確立を目的として、市販一般用漢方製剤「葛根湯」、「加味逍遙散」、「猪苓湯」を用い、それぞれ、長期・中期・短期服用モデルとして、漢方処方の使用実態調査の手法確立を行ってきた。その結果、この調査デザインは、再現性があり、漢方薬の有用性評価の手法として有効な手段であることが示された。この確立された調査手法を用いて、昨年度より日本漢方生薬製剤協会、大学関係者の協力を得て「防風通聖散」の使用実態調査を行う準備を行ってきた。本年度は調査を実施し、関東地区、関西地区を合わせて 35 名の調査責任薬剤師と契約を締結、199 例のエントリーが得られ、うち 188 例について有効な回収が確認された。また、医師の受診が必要な有害事象等、重大なトラブルは生じなかった。

研究協力者

柴原直利 富山大学和漢医薬学総合研究所漢方診断学部門教授

花輪壽彦 北里大学東洋医学総合研究所所長

中田敬吾 聖光園細野診療所院長

雨谷栄 日本薬科大学漢方薬学科教授

糸数七重 日本薬科大学漢方薬学科講師（国立医薬品食品衛生研究所生薬部協力研究員）

伏見 環 細菌製剤協会常務理事

中村高敏 医薬品医療機器総合機構一般薬等審査部審査役（国立医薬品食品衛生研究所生薬部協力研究員）

大窪敏樹 日本漢方生薬製剤協会一般用漢方製剤委員会委員長（クラシエ薬品(株)漢方研究所）

西山隆 日本漢方生薬製剤協会（クラシエ薬品(株)ヘルスケア学術グループ）

松本良三 日本漢方生薬製剤協会（小太郎漢方

製薬株式会社信頼性保証部）

若林健一 日本漢方生薬製剤協会（小林製薬中央研究所薬事部管理薬事グループ）

平雅代 日本漢方生薬製剤協会（ジェーピーエス製薬(株)開発部）

平野泰雅 日本漢方生薬製剤協会（(株)ツムラヘルスケア部商品企画課）

村田康治 日本漢方生薬製剤協会（ロート製薬(株)マーケティング本部製品情報部）

袴塚高志 国立医薬品食品衛生研究所生薬部室長

大屋のぞみ 国立医薬品食品衛生研究所生薬部

A. 研究目的

近年、急速な高齢化の進展や生活習慣病の増加など疾病構造の変化、生活の質（QOL）の追